

EFEITO DE MALTOSE SOBRE A REGENERAÇÃO DE EMBRIÕES SOMÁTICOS DE CAFÉ

Carlos Henrique Siqueira de Carvalho¹, Danielle Silva Souza², Ana Carolina SR Paiva², Paloma Bequima Borato³, Iran Bueno Ferreira³, Betel Silva Fernandes³, Maira Tavares Pereira²

¹Embrapa Café/Fundação Procafé, Varginha-MG, carlos.carvalho@embrapa.br, ²Fundação Procafé, Varginha, MG, ³Bolsistas do Consórcio Pesquisa Café.

No processo de produção de mudas clonais do cafeeiro por embriogênese somática, os meios de cultura usados para a conversão de calos embriogênicos em embriões (regeneração) são em geral semissólidos, de consistência gelatinosa. Todavia, a eficiência de regeneração é baixa, pois só se formam cerca de 1 a 4 embriões globulares/mg de calo plaqueado. A eficiência da regeneração de embriões em meio líquido é bastante variável, havendo relatos de 2 (Maciel et al. 2016) a cerca de 20 embriões/mg de agregado embriogênico, conforme recentes resultados do Laboratório de Biotecnologia da Fundação Procafé. Para a produção de mudas em escala comercial é necessário que a taxa de produção de embriões seja aumentada, a fim de reduzir o custo final da muda. Este trabalho estudou a utilização de maltose, em comparação com o meio padrão com sacarose, para a regeneração de embriões somáticos em meio semissólido e em meio líquido. Foram realizados dois experimentos instalados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, com três meios de cultura (K, 35 e 0,3 para o experimento com sistema líquido e RR20, 35 e 0,3, para o sistema semissólido), três combinações maltose/sacarose (30/0, 15/15 e 0/30 g/L) (Tabela 1) e três repetições. Para o meio líquido cada parcela experimental foi formada por um Erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 mg de agregado embriogênico em 50ml de meio e, para o meio semissólido foram usadas placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro, contendo seis calos com 100 mg cada. Os meios K, 35 e 0,3 são modificações do meio R (Etienne, 2005) sem sulfato de adenina. O meio K foi suplementado com 0,1 mg/L de ANA e nos meios 35 e 0,3 usaram-se 1,0 e 0,3 mg/L de BAP, respectivamente. O meio RR foi feito segundo Maciel et al., (2016) (Crop Breeding and Applied Biotechnology 16: 102-107, 2016). O meio líquido foi mantido sob agitação de 105 rpm e subcultivado a cada 15 dias. Após 60 dias foi calculado o número de embriões globulares/mg de calo ou agregado embriogênico inoculado. A diferença significativa entre os tratamentos foi calculada usando-se o teste F a 5% de probabilidade e a separação das médias entre tratamentos realizada com o teste Scott-Knott.

Resultados e conclusões

Não houve interação significativa entre os meios de cultura e as fontes de carboidrato nos dois experimentos. No sistema líquido o meio K produziu mais embriões que os meios 35 e 0,3 e não houve diferença entre os meios 35 e 0,3, indicando as produções de embriões nas concentrações de 2,0 ou 0,3 mg/L de BAP foram semelhantes. Maltose (30g/L) ou maltose (15 g/L) + sacarose (15 g/L) produziram significativamente mais embriões que sacarose a 30 g/L, tanto no sistema líquido quanto no semissólido. No sistema semissólido o meio RR regenerou mais embriões que os meios 35 e 0,3. O melhor meio no sistema semissólido, o meio RR com maltose, produziu 10,0 embriões/mg calo, ao passo que o melhor meio no sistema líquido, o meio K com maltose, produziu em média 228,8 embriões/mg de agregado embriogênico (Tabela 5), ou seja, um aumento de cerca de 20 vezes, evidenciando a larga vantagem do sistema líquido sobre o semissólido.

A regeneração obtida no sistema líquido com maltose aumenta significativamente o potencial de produção de mudas de café via embriogênese somática. Se considerarmos que podem ser obtidos 40 explantes a partir de uma única folha e que 20% desses explantes produzam calos embriogênicos, pode-se obter, aproximadamente, 270.000 embriões/folha usando-se o meio K com maltose no sistema líquido.

Tabela 1. Efeito do meio de cultura sobre a produção de embriões globulares em sistema líquido.

Meio de cultura	Nº de embriões/mg de agregado embriogênico
K	165,4 a
35	95,3 b
0,3	65,8 b

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Efeito da fonte de carboidrato sobre produção de embriões globulares obtidos em meio de cultura líquido.

Fonte de carboidrato	Nº de embriões/mg de calo embriogênico (média dos meios K, 35 e 0,3)
Maltose 30 g/L	148,3 a
Maltose/Sacarose (15/15 g/L)	135,8 a
Sacarose 30 g/L	42,4 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Efeito do meio de cultura sobre a produção de embriões em sistema semissólido.

Meio de cultura	Nº de embriões/mg de calo
RR	3,9 a
35	1,9 b
0,3	0,3 c

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Efeito da fonte de carboidrato sobre a produção de embriões em sistema semissólido.

Meio de cultura	Nº de embriões/mg de calo
Maltose 30 g/L	8,9 a
Maltose/Sacarose (15/15 g/L)	6,4 a
Sacarose 30 g/L	2,5 b

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Efeito do meio de cultura e da fonte de carboidrato sobre a produção de embriões somáticos de café em meio líquido.

Meio de Cultura	Fonte de Carboidrato		
	Maltose	Maltose/Sacarose	Sacarose
K	228,8	194,2	73,2
35	147,0	109,1	29,7
0,3	69,1	104,1	24,3